

## Imipenem/Cilastatin sodium (MK-0787/MK-0791) の 安全性に関する研究 (第4報)

ラットにおける腎障害の他剤との比較ならびに furosemide および glycerol による増強効果

白居敏仁・久野博司・小林速雄・松井恭子・花見正幸  
日本メルク萬有株式会社研究所

新しい carbapenem 系抗生物質である imipenem (MK-0787) および MK-0787 と cilastatin sodium (MK-0791) (1:1) 配合剤のラットへの腎障害性を, cephaloridine および cefazolin と比較検討した。さらに, これらの抗生物質をラットに furosemide および glycerol と併用投与し腎障害性を比較検討した。

1. MK-0787 および MK-0787 と MK-0791 配合剤を投与可能な最大量でラットに 21 日間にわたり静脈内投与しても, 腎への障害性は認められなかった。Cefazolin のラット腎への障害性は認められなかった。Cephaloridine では腎障害性が認められ, 尿細管上皮細胞の障害と修復の経過は尿検査, 尿中酵素活性および血清生化学的検査の変化と相関していた。

2. Furosemide および glycerol を投与することにより一過性の腎障害を起こしたラットに cephaloridine を 500 mg/kg の用量で投与すると腎障害は増強された。一方, MK-0787, MK-0791, MK-0787 と MK-0791 配合剤または cefazolin をそれぞれ 600, 600, 600/600 または 600 mg/kg の用量で併用投与しても furosemide および glycerol による腎障害は増強されることが確認された。

Imipenem (MK-0787) は, 米国メルク社研究所で開発された新しい carbapenem 系抗生物質で, 広範囲の菌種に対し, 強い抗菌力を示す。Cilastatin sodium (MK-0791) は腎の dehydropeptidase-I 阻害剤であり, MK-0787 の代謝を抑制して MK-0787 の尿中回収率を増加させるために開発された<sup>1)</sup>。

MK-0787, MK-0791 およびそれらの配合剤に関する広範な毒性試験が各種実験動物を用いて実施され, 腎のほかには毒性を示す所見は認められていない<sup>2)</sup>。MK-0787 の腎毒性の程度は, 使用する動物種により異なりウサギでは cephaloridine (CER) と同程度であった<sup>2)</sup>。腎毒性が発現しない最大量はウサギでは 50mg/kg/day であり, サルでは 120mg/kg/day と腎毒性は弱く, またラットでは 1000mg/kg/day でも腎毒性は認められなかった。

上田らは<sup>3)</sup>, ラットおよびウサギを用いた抗生物質の腎障害性を検定する標準試験法を提唱し, 従来から多くの抗生物質に応用している。今回その方法に準じて MK-0787 および MK-0787 と MK-0791 配合剤のラット腎への障害性を検討した。また, 抗生物質を利尿剤と併用投与すると腎毒性は増強することが知られていることから<sup>4)-6)</sup>, 利尿剤として広く使用されている furosemide と glycerol を用いてラットにおける腎障害性

を合わせて検討したので, これらの結果を報告する。

### I. 実験材料および実験方法

#### 1. 使用薬物

Imipenem (MK-0787, 米国メルク社研究所), cilastatin sodium (MK-0791, 米国メルク社研究所), cefazolin (CEZ, 藤沢薬品), cephaloridine (CER, 藤沢薬品), furosemide (Bulgaria "Pharmachim") および glycerol (日本油脂) を用いた。

MK-0787 溶液は 0.3% 炭酸水素ナトリウムと混和し, 注射用蒸留水に加温溶解した。MK-0787/MK-0791

Fig. 1 Average body weight curves in male rats treated with MK-0787, MK-0787/MK-0791, other cephalosporins for 21 days

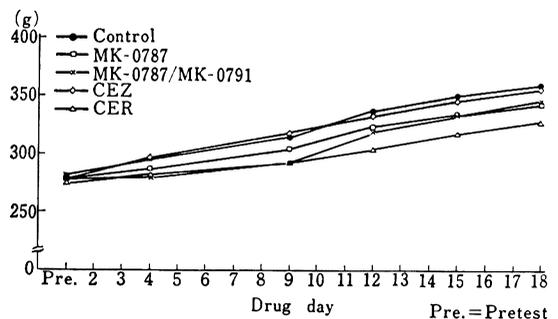


Table 1 Renal function after a single administration of MK-0787, MK-0787/MK-0791 or other cephalosporins in rats

Group	Control	MK-0787	MK-0787/MK-0791	CEZ	CER
<u>Urinalysis</u>					
No. of rats	5	5	5	5	5
Volume, ml/16hrs	11.7±2.8 <sup>a</sup>	17.2±4.7	13.3±4.9	13.9±7.9	22.4±4.9*
Protein, -	0 <sup>b</sup>	3	1	3	1
±	5	2	3	2	1
+	0	0	1	0	3
Glucose, -	5	5	5	5	5
Bilirubin, -	5	5	5	5	5
Occult blood, -	4	5	5	4	5
±	1	0	0	0	0
+	0	0	0	1	0
Erythrocytes, -	5	5	5	5	5
Leukocytes, -	5	5	5	5	5
Epithelial cells, -	5	5	5	5	2
+	0	0	0	0	1
++	0	0	0	0	1
+++	0	0	0	0	1
Coarse granular casts, -	5	5	5	5	5
NAG, U/16hrs	15.67±3.76	12.57±1.27	15.73±6.24	15.24±1.95	12.17±4.30
U/ml/16hrs	1.38±0.32	0.77±0.21*	0.95±0.19	1.43±0.77	0.56±0.20*
Lysozyme, µg/16hrs	0.148±0.141	0.661±0.481	0.296±0.311	0.316±0.345	3.003±2.558*
µg/ml/16hrs	0.011±0.011	0.039±0.029	0.023±0.021	0.038±0.042	0.140±0.130*
r-GTP, IU/16hrs	8.3±1.8	9.6±3.5	10.9±3.2	6.5±1.1	12.5±2.7*
IU/ml/16hrs	0.7±0.2	0.6±0.2	0.9±0.5	0.6±0.4	0.6±0.1
<u>Serum biochemistry</u>					
No. of rats	5	5	5	5	5
BUN, mg/dl	10.6±1.4	9.3±0.9*	8.8±1.3	10.0±1.0	13.7±3.1
Creatinine, mg/dl	0.58±0.04	0.53±0.06	0.52±0.05	0.54±0.03	0.65±0.06*

\* : Significantly different from the control ( $p \leq 0.05$ , LSD)

- : Normal or negative, ± : Very slight, + : Slight, ++ : Moderate, +++ : Marked

<sup>a</sup> : Mean±S.D.

<sup>b</sup> : Number of animals

溶液は、予め MK-0791 を注射用蒸留水に溶解し、それを MK-0787 と 0.3% 炭酸水素ナトリウムに混和したのち加温溶解した。MK-0791, CEZ および CER は注射用蒸留水に溶解した。調製液は、0.22 micron の Millex®-GS フィルターで濾過した。Furosemide は 0.5% メチルセルロース水溶液 (400 cps) に懸濁し、glycerol は同容量の生理食塩液にて希釈して使用した。これらの薬液は、いずれも投与日に調製し、特に MK-0787 と MK-0787/MK-0791 は、調製後 30 分以内に使用した。

## 2. 実験計画

### 1) 21 日間にわたる連続投与実験

生後 7~8 週齢の SD 系雄ラット (Crj: CD, 日本チャールス・リバー(株)) 50 匹を 10 匹ずつ下記の 5 群に配分し、所定の薬物を 1 日 1 回 21 日間にわたり静注

した。

- (1) 対照群 : 生理食塩液 10 ml/kg/day
- (2) MK-0787 群 : 900 mg/kg/day
- (3) MK-0787/MK-0791 群 : 900/900 mg/kg/day
- (4) CEZ 群 : 900 mg/kg/day
- (5) CER 群 : 750 mg/kg/day

MK-0787/MK-0791 群で初回投与後に 2 例が死亡したため、投与第 2 日より MK-0787 および MK-0787/MK-0791 両群の用量をそれぞれ 600 および 600/600 mg/kg/day に下げた。

体重を週に 2 回測定するとともに、症状を毎日観察した。投与前、投与 1, 7 および 21 回処置後に各群 5 匹の動物を代謝ケージに収容した。16 時間尿を採取し、蛋白、糖、ビリルビン、潜血 (以上 Multistix®), 尿沈渣 (Kova® system) を検査し、尿量、N-acetyl-β-D-glu-

Table 2 Renal function after 7-day administration of MK-0787, MK-0787/MK-0791 or other cephalosporins in rats

Group	Control	MK-0787	MK-0787/MK-0791	CEZ	CER
<b>Urinalysis</b>					
No. of rats	5	5	5	5	5
Volume, ml/16hrs	17.1±8.9 <sup>a</sup>	15.1±3.4	11.7±7.1	15.6±7.7	18.1±5.3
Protein, -	1 <sup>b</sup>	1	1	3	2
±	3	3	2	2	2
+	1	1	2	0	1
Glucose, -	5	5	5	5	5
Bilirubin, -	5	5	5	5	5
Occult blood, -	4	4	2	2	4
±	1	0	2	2	1
+	0	1	1	1	0
Erythrocytes, -	5	5	5	4	5
+	0	0	0	1	0
Leukocytes, -	5	5	5	5	5
Epithelial cells, -	5	5	5	5	1
+	0	0	0	0	0
++	0	0	0	0	1
+++	0	0	0	0	3
Coarse granular casts, -	5	5	5	5	1
+	0	0	0	0	1
++	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	3
NAG, U/16hrs	14.40±4.00	14.11±2.04	11.76±3.50	13.95±3.40	16.11±8.40
U/ml/16hrs	0.96±0.32	0.96±0.19	1.15±0.36	1.05±0.45	0.89±0.49
Lysozyme, µg/16hrs	0.099±0.161	0.527±0.353	0.492±0.257	0.496±0.536	0.717±0.708
µg/ml/16hrs	0.007±0.009	0.037±0.030	0.045±0.020	0.024±0.023	0.041±0.038
γ-GTP, IU/16hrs	12.4±4.2	9.9±3.2	12.2±6.1	11.6±1.4	7.9±3.7
IU/ml/16hrs	0.8±0.3	0.7±0.2	1.4±0.7*	0.9±0.4	0.5±0.2
<b>Serum biochemistry</b>					
No. of rats	5	5	5	5	5
BUN, mg/dl	13.7±2.0	13.5±1.7	14.5±3.3	11.7±1.0	17.6±2.6*
Creatinine, mg/dl	0.62±0.03	0.59±0.04	0.58±0.05	0.62±0.02	0.62±0.05

\* : Significantly different from the control ( $p \leq 0.05$ , LSD)

- : Normal or negative, ± : Very slight, + : Slight, ++ : Moderate, +++ : Marked

<sup>a</sup> : Mean±S.D.<sup>b</sup> : Number of animals

cosaminidase (NAG, LOCKWOOD & BOSMANN の変法<sup>7)</sup>),  
 γ-glutamyl transpeptidase (γ-GTP, SZASZ の変法),  
 lysozyme (LITWACK の変法<sup>8)</sup>) を測定した。採尿後エー  
 テル麻酔下に眼窩静脈叢より採血し、血清尿素窒素  
 (BUN, 酵素法) およびクレアチニン (JAFFE 法) を測定  
 した。

投与第 8 日目および第 22 日目にそれぞれ各群の 1 ~  
 3 匹および 6 ~ 7 匹を屠殺し、腎を観察するとともにそ  
 の重量を測定した。ついでホルマリン液に固定後 hema-  
 toxylin-eosin 染色切片を作成し、鏡検した。試験期間中  
 に死亡した動物は肉眼的病理検査を実施した。

2) Furosemide および glycerol との併用実験

生後 5 週齢の SD 系雄ラット (Crj : CD) 35 匹を 5 匹  
 ずつ下記の 7 群に配分し、所定の薬物を単回投与した。

(1) 対照群 : 生理食塩液 10 ml/kg, I. V.

(2) F+G 群 : furosemide 50 mg/kg+50% glycerol  
 2 ml/kg, S. C.

(3) MK-0787+F+G 群 : MK-0787 600 mg/kg,  
 I. V. +F+G

(4) MK-0791+F+G 群 : MK-0791 600 mg/kg,  
 I. V. +F+G

(5) MK-0787/MK-0791+F+G 群 : MK-0787/  
 MK-0791 600/600 mg/kg, I. V. +F+G

(6) CEZ+F+G 群 : CEZ 600 mg/kg, I. V. +F+G

Table 3 Renal function after 21-day administration of MK-0787, MK-0787/MK-0791 or other cephalosporins in rats

Group	Control	MK-0787	MK-0787/MK-0791	CEZ	CER
<u>Urinalysis</u>					
No. of rats	5	4 <sup>a</sup>	4 <sup>b</sup>	5	5
Volume, ml/16hrs	17.7±7.2 <sup>c</sup>	11.1±3.1	9.5±3.9	12.9±7.5	23.5±7.7
Protein, —	2 <sup>d</sup>	0	0	2	2
±	3	3	2	2	3
+	0	1	2	1	0
Glucose, —	5	4	4	5	5
Bilirubin, —	5	4	4	5	5
Occult blood, —	4	3	3	4	1
±	1	0	1	0	3
+	0	1	0	1	1
Erythrocytes, —	5	4	4	5	5
Leukocytes, —	5	4	4	5	5
Epithelial cells, —	5	4	4	5	5
Coarse granular casts, —	5	4	4	5	5
NAG, U/16hrs	13.17±5.50	14.90±2.46	13.31±2.52	10.28±2.90	13.49±3.89
U/ml/16hrs	0.84±0.44	1.39±0.33	1.63±0.87	1.07±0.75	0.59±0.15
Lysozyme, µg/16hrs	0.188±0.252	0.470±0.524	0.202±0.235	0.040±0.088	0.264±0.373
µg/ml/16hrs	0.011±0.011	0.055±0.072	0.018±0.022	0.005±0.012	0.015±0.021
γ-GTP, IU/16hrs	17.0±6.4	14.8±3.2	19.9±5.1	14.0±3.4	15.7±6.1
IU/ml/16hrs	1.2±0.9	1.4±0.6	2.5±1.6	1.5±1.1	0.8±0.4
<u>Serum biochemistry</u>					
No. of rats	5	4 <sup>a</sup>	4 <sup>b</sup>	5	5
BUN, mg/dl	14.7±1.2	14.4±2.5	13.6±2.6	12.3±0.7	18.1±3.5 <sup>*</sup>
Creatinine, mg/dl	0.57±0.05	0.53±0.05	0.58±0.05	0.61±0.05	0.55±0.04

\* : Significantly different from the control ( $p \leq 0.05$ , LSD)

— : Normal or negative, ± : Very slight, + : Slight

<sup>a</sup> : One animal died on Drug Day 12.

<sup>b</sup> : One animal died on Drug Day 11.

<sup>c</sup> : Mean±S.D.

<sup>d</sup> : Number of animals

(7) CER+F+G群 : CER 500 mg/kg, I. V. +F+G  
動物は代謝ケージに入れ、投与前約 16 時間と投与後約 24 時間飼育した。投与前、および投与 4 および 24 時間後に尿を採取し、尿量、lysozyme、γ-glutamyl ranspeptidase を測定した。また、pH、糖、蛋白、ビリルビン、潜血および尿沈渣を検査した。

投与前および投与約 24 時間後にエーテル麻酔下に眼窩静脈叢より採血し、血清尿素窒素およびクレアチニンを測定した。

最終採血後、腎を摘出して、肉眼的に観察するとともに重量を測定した。ついで、組織学的に検索した。

実験結果は分散分析および最小有意差限界法 (LSD Test) を用いて統計学的解析を行った。すべての統計学的解析は有意水準 5% で実施した。

## II. 実験成績

### 1. 21 日間にわたる連続投与実験

#### (1) 一般状態の観察

MK-0787/MK-0791 群の 2 例が 1 回投与後に死亡し、同群の 1 例が 11 回投与後に死亡した。MK-0787 群の 1 例も 12 回投与に死亡した。これらの動物は間代性痙攣を呈し、投与後 1 時間以内に死に至った。剖検では何ら変化は認められなかった。

MK-0787 群の 1 例が 1 回投与後一過性に運動失調を示した。また、CER 群では投与直後の流涎が時折認められた。

MK-0787, MK-0787/MK-0791 および CER 群の体重は、試験終了時、対照群と比べ、それぞれ 14, 16 および 26% の増加抑制を示した (Fig. 1)。

CEZ 群の一般状態の観察では、何ら異常は認められなかった。

#### (2) 尿の定量的検査値

各群の尿量、NAG、γ-GTP および lysozyme 値を

Table 4 Pathological changes of kidneys after 7-day administration of MK-0787, MK-0787/MK-0791 or other cephalosporins in rats

Group	No. of animals	Kidney weight (% body wt.)	Pathological changes	
			Tubular necrosis	Tubular basophilia
Control	3	0.86±0.01*	—	—
MK-0787	3	0.93±0.07	—	—
MK-0787/MK-0791	1	0.91	—	—
CEZ	3	0.88±0.04	—	—
CER	3	1.07±0.04	++	+++

—: Normal, ++: Moderate, +++: Marked

\*: Mean±S.D.

Table 5 Pathological changes of kidneys after 21-day administration of MK-0787, MK-0787/MK-0791 or other cephalosporins in rats

Group	No. of animals	Kidney weight (% body wt.)	Pathological changes	
			Tubular necrosis	Tubular basophilia
Control	7	0.77±0.05*	—	—
MK-0787	5	0.89±0.06*	—	—
MK-0787/MK-0791	6	0.95±0.05*	—	—
CEZ	7	0.81±0.06	—	—
CER	7	1.05±0.06*	—	—~+

\*: Significantly different from the control ( $p \leq 0.05$ , LSD)

\*: Mean±S.D.

—: Normal, +: Slight

Table 1~3 に示した。

1回投与後では、CER群の尿量が統計学的に有意に増加し (Table 1), その後も増加傾向が認められた (Table 2, 3)。

尿中酵素活性については、1回投与後 (Table 2) に MK-0787 または CER 群の NAG 値が統計的に有意に減少した。また、1回投与後または7回投与後 (Table 1, 2) に、それぞれ CER または MK-0787/MK-0791 群の  $\gamma$ -GTP 値が統計学的に有意に増加した。MK-0787, MK-0787/MK-0791, CEZ または CER 群の lysozyme 値は、1, 7 または 21 回投与後に対照群に比べて高い傾向を示し、そのうち CER 群の1回投与後の lysozyme 値の変動は統計学的に有意であった。

### (3) 尿の定性的検査値

MK-0787, MK-0787/MK-0791 および CEZ 群の尿の定性的検査値 (Table 1, 3) には、薬物投与に関連する変化は認められなかった。

CER 群では、1および7回投与後に上皮細胞が尿に排泄され、7回投与後に粗顆粒円柱が排泄された (Table 1, 2)。しかし、これらの変化は、21回投与後には観察されなかった (Table 3)。

### (4) BUN およびクレアチニン値

MK-0787/MK-0791 群の BUN 値は1回投与後に統計学的な有意差をもって若干減少した (Table 1)。

MK-0787, MK-0787/MK-0791 および CEZ 群の BUN およびクレアチニン値には生物学的に意味のある変化は認められなかった (Table 1~3)。CER 群では、1回投与後に軽度ではあるが、統計学的に有意なクレアチニン値の増加 (Table 1) が認められ、7および21回投与後には軽度ではあるが統計学的に有意な BUN の増加 (Table 2, 3) がみられた。

### (5) 腎重量および腎の病理学的所見

腎重量および腎の病理学的所見は Table 4, 5 に示した。

MK-0787 または MK-0787/MK-0791 群の腎重量は、軽度ではあるが統計学的に有意に増加した (Table 5)。腎の組織学的検査においては、これらの群に異常な変化は認められなかった。

CEZ 群の腎重量および腎の組織学的検査に異常な変化は観察されなかった。

一方、CER 群では肉眼的に腎の腫大、褪色が観察された。組織学的には7回投与後に屠殺した動物の腎に近

Table 6 Renal function at 4hrs after administration of MK-0787, MK-0791, MK-0787/MK-0791 or other cephalosporins in combination with furosemide and glycerol in rats

Group	Control	F + G	MK-0787 + F + G	MK-0791 + F + G	MK-0787/MK-0791 + F + G	CEZ + F + G	CER + F + G
Urinalysis							
No. of rats	5	5	5	5	5	5	5
Volume, ml/4hrs	1.5±0.6 <sup>a</sup>	10.4±4.5*	10.9±4.5	12.7±7.2	13.3±1.0	10.9±1.2	11.7±3.0
Protein, —	0 <sup>b</sup>	0	0	0	0	0	0
±	4	3	1	2	1	3	1
+	1	2	4	3	4	2	4
Glucose, —	5	5	5	5	5	5	5
Bilirubin, —	5	5	5	5	5	5	5
Occult blood, —	5	0	0	0	0	0	0
±	0	0	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0	0	0
++	0	0	0	0	0	0	0
+++	0	5	5	5	5	5	5
Erythrocytes, —	5	5	5	5	5	5	5
Leukocytes, —	5	5	5	5	5	5	5
Hyaline casts, —	5	5	5	5	5	5	5
+	0	0	1	0	0	0	1
++	0	0	2	0	0	0	4
Epithelial cells, —	5	3	2	5	4	5	0
+	0	2	3	0	1	0	3
Coarse granular casts, —	5	5	5	5	5	5	5
Lysozyme, µg/4hrs	0.113±0.092	0.363±0.202*	0.149±0.256	0.394±0.171	0.088±0.128	0.231±0.167	0.099±0.071
µg/ml/4hrs	0.118±0.161	0.037±0.017	0.014±0.021 <sup>+</sup>	0.033±0.009	0.006±0.009 <sup>+</sup>	0.020±0.015	0.008±0.005 <sup>+</sup>
γ-GTP, IU/4hrs	0.4±0.1	0.8±0.3	0.7±0.3	0.6±0.4	0.6±0.2	0.8±0.1	0.8±0.3
IU/ml/4hrs	0.3±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.1±0.0	0.1±0.1

\* : Significantly different from the control (  $p \leq 0.05$ , LSD)

+ : Significantly different from the F + G group (  $p \leq 0.05$ , LSD)

— : Normal or negative, ± : Very slight, + : Slight, ++ : Moderate, +++ : Marked

a : Mean±S.D.

b : Number of animals

Table 7 Renal function at 24hrs after administration of MK-0787, MK-0791, MK-0787/MK-0791 or other cephalosporins in combination with furosemide and glycerol in rats

Group	Control	F + G	MK-0787 + F + G	MK-0791 + F + G	MK-0787/MK-0791 + F + G	CEZ + F + G	CER + F + G
<b>Urinalysis</b>							
No. of rats	5	5	5	5	5	5	5
Volume, ml/20hrs	9.4±1.6 <sup>a</sup>	14.0±5.2	15.3±7.7	11.0±6.3	15.2±3.7	8.2±2.1	23.4±11.2 <sup>+</sup>
Protein, —	0 <sup>b</sup>	0	1	0	0	0	0
±	1	3	4	1	5	1	4
+	4	2	0	4	0	4	1
Glucose, —	5	5	5	5	5	5	5
Bilirubin, —	5	5	5	5	5	5	5
Occult blood, —	5	3	0	1	0	3	0
±	0	2	5	2	1	2	3
+	0	0	0	1	3	0	1
+++	0	0	0	0	0	0	0
++++	0	0	0	1	0	0	0
Erythrocytes, —	5	5	5	5	5	5	5
Leukocytes, —	5	5	5	5	5	5	5
Epithelial cells, —	5	5	3	4	2	4	1
+	0	0	2	1	3	1	3
++	0	0	0	0	0	0	1
Hyaline casts, —	5	5	5	5	5	5	5
Coarse granular casts, —	5	5	5	5	5	5	5
+	0	0	0	0	0	0	2
<b>Serum biochemistry</b>							
Lysozyme, µg/20hrs	0.085±0.121	1.016±0.520*	1.451±0.841	0.675±0.285	1.155±0.252	0.416±0.187 <sup>+</sup>	2.175±1.221 <sup>+</sup>
µg/ml/20hrs	0.010±0.014	0.085±0.049*	0.124±0.119	0.066±0.011	0.082±0.038	0.056±0.035	0.127±0.141
γ-GTP, IU/20hrs	3.2±0.7	5.8±1.2	6.3±2.4	4.3±2.6	5.8±2.5	5.4±1.6	5.8±1.8,
IU/ml/20hrs	0.3±0.1	0.4±0.2	0.5±0.4	0.4±0.2	0.4±0.1	0.7±0.3	0.3±0.1.
<b>Serum biochemistry</b>							
No. of rats	5	5	5	5	5	5	5
BUN, mg/dl	18.8±2.9	21.8±1.2	22.1±2.5	21.5±3.2	20.0±4.5	20.2±2.2	16.9±2.5
Creatinine, mg/dl	0.54±0.02	0.51±0.02	0.48±0.03	0.47±0.03	0.50±0.03	0.45±0.03	0.52±0.03

\* : Significantly different from the control ( $p \leq 0.05$ , LSD)+ : Significantly different from the F + G group ( $p \leq 0.05$ , LSD)

— : Normal or negative, ± : Very slight, + : Slight, ++ : Moderate, +++ : Marked

a : Mean±S.D.

b : Number of animals

Table 8 Pathological changes of kidneys in rats treated with MK-0787, MK-0787/MK-0791 or other cephalosporins in combination with furosemide and glycerol

Group	No. of animals	Kidney weight (% body wt.)	Pathological changes	
			Necrosis of proximal convoluted tubules	Degeneration of proximal straight tubules
Control	5	0.919±0.016*	—	—
F+G	5	1.058±0.094*	—	+
MK-0787+F+G	5	1.025±0.036	—	+
MK-0791+F+G	5	1.034±0.016	—	+
MK-0787/MK-0791+F+G	5	1.019±0.031	—	+
CEZ+F+G	5	1.005±0.080	—	+
CER+F+G	5	1.073±0.061	+~++	—~+

\* : Mean±S.D.

\* : Significantly different from the control ( $p \leq 0.05$ , LSD)

— : Normal, + : Slight, ++ : Moderate

位尿管上皮細胞の限局性壊死および尿管上皮の再生を示す好塩基性近位尿管上皮細胞がみられた (Table 4)。また、21 回投与後に屠殺した同群の動物には、好塩基性尿管上皮細胞が認められた (Table 5)。その他近位尿管の限局性拡張も観察された。

## 2. Furosemide および glycerol との併用実験

### 1) 尿の定量的検査値

各群の尿量、 $\gamma$ -GTP および lysozyme 値を Table 6, 7 に示した。

はじめの 0~4 時間尿 (Table 6) では、F+G 群に著しい尿量の増加、 $\gamma$ -GTP および lysozyme 値の上昇が認められた。MK-0787+F+G, MK-0787/MK-0791+F+G, MK-0791+F+G, CER+F+G, CEZ+F+G 群では、F+G 群と比べて大差は認められなかった。4~24 時間尿 (Table 7) では、F+G 群の尿量、 $\gamma$ -GTP および lysozyme 値は、増加または増加傾向を示した。CER+F+G 群では、F+G 群と比べて尿量および lysozyme 値が高い値を示したが、他の併用投与群では F+G 群と比較して大差は認められなかった。

### 2) 尿の定性的検査値

各群における尿の定性的検査値は Table 6, 7 に示すとおりで、投与 4 時間後および 24 時間後の尿では、furosemide と glycerol を併用した各群にヘモグロビン尿が観察された。また、少数の上皮細胞の尿への排泄が furosemide と glycerol を併用した各群に認められた。MK-0787+F+G 群および CER+F+G 群の投与 4 時間後の尿の検査では、硝子様円柱が認められた。CER+F+G 群の投与 24 時間後の尿の検査では、1 例に上皮細胞の排泄の増加 (中等度)、2 例に粗顆粒円柱の排泄が認められた。

### 3) BUN およびクレアチニン値

BUN およびクレアチニン値は Table 7 に示すとおり、薬物投与に関連する変化は認められなかった。

## 4) 腎重量および腎の病理学的所見

F+G 群の腎重量は対照群と比べて軽度増加し、組織学的検査において近位尿管直部に変性が認められた (Table 8)。

MK-0787/MK-0791+F+G 群の腎臓は、肉眼的に褐色がみられたが、組織学的な変化は F+G 群と同様であった。MK-0787+F+G, MK-0791+F+G および CEZ+F+G 群の動物においても F+G 群に観察された組織学的変化以外は認められなかった (Table 8)。

CER+F+G 群では、F+G 群に認められた組織学的変化に加えて、近位尿管曲部に限局性の急性壊死が認められた (Table 8)。

## III. 考 察

MK-0787 および MK-0787 と MK-0791 (1:1) 配合剤のラット腎への障害性を上田ら<sup>3)</sup>の方法を用いて検討するとともに、CER および CEZ のそれと比較した。また、抗生物質を利尿剤と併用投与した場合、腎毒性が増強することが報告<sup>4)~6)</sup>されていることから、MK-0787 および MK-0787 と MK-0791 配合剤について furosemide と glycerol 併用時の腎毒性を検討し、CER と CEZ のそれと比較した。

### 1. 21 日間にわたる連続投与実験

MK-0787 および MK-0787/MK-0791 群では、死亡および体重増加の抑制が認められたことから、今回使用した用量 (投与第 1 回目 900 mg/kg または 900/900 mg/kg, 投与第 2 回目以後 600 mg/kg または 600/600 mg/kg) は、ラットへの連続投与可能な最大量と考えられた。これらの群の NAG および  $\gamma$ -GTP 活性は統計学的に有意に変動したが、個別データはいずれも正常変動

範囲内にあり、生物学的に有意な変化とは考えられなかった。また、腎重量が統計学的に有意に増加したが、腎の組織学的な変化は認められなかったため、腎重量の変動は薬物投与による腎障害に関連する変化とは考えられなかった。

CEZ 900 mg/kg/day 群では、腎の機能的、形態学的変化は認められなかった。

CER 750 mg/kg/day 群では、1回投与後に尿量および尿中 lysozyme 活性が有意に増加するとともに上皮細胞および粗顆粒円柱の尿中排泄がみられた。尿糖、尿蛋白、BUN およびクレアチニンには毒性学的に有意な変動が認められなかったことから、NGAHA および PLUMMER<sup>9)</sup>、ATKINSON<sup>10)</sup>らが報告した通り、尿中 lysozyme 活性、尿沈渣中の上皮細胞および円柱が、腎障害の鋭敏な指標であることを確認できた。近位尿細管上皮細胞の lysosomal enzyme である NAG<sup>11)</sup> および上皮細胞の刷子縁に局在すると報告されている  $\gamma$ -GTP<sup>12)</sup> も統計学的に有意に変動したが、個別データはいずれも正常変動範囲内にあり、生物学的に意味ある変化とは考えられなかった。7回投与後には、BUN の軽度の増加および粗顆粒円柱の排泄がみられ、組織学的に尿細管上皮細胞の局所性壊死および再生した上皮細胞が認められた。21回投与後には、BUN が軽度に増加しているものの尿中酵素活性および尿沈渣に異常は認められず、組織学的にも尿細管上皮細胞の壊死は認められなかった。すなわち、CER を連続投与しているにもかかわらず尿細管上皮細胞は再生過程にあった。これらは PRESCOTT および ANSARI<sup>13)</sup>、SCOTT<sup>14)</sup>ら、HOUGHTON ら<sup>15)</sup>および田村ら<sup>6)</sup>の報告にあるように再生した上皮細胞の CER に対する感受性が低下したことに関連するものと考えられた。

以上の成績から、これら抗生物質のラットにおける腎障害性を比較すると CER ≫ CEZ, MK-0787, MK-0787/MK-0791 の順であった。

## 2. Furosemide および glycerol との併用実験

Furosemide-glycerol 群では、投与4時間および24時間尿の検査でヘモグロビン尿、上皮細胞の排泄、尿量の増加、 $\gamma$ -GTP および lysozyme 活性の増加が認められ、組織学的に近位尿細管直部の変性が観察された。この変化は furosemide-glycerol 投与により生じた修復可能な腎障害と考えられた。

MK-0787, MK-0791, MK-0787/MK-0791 または CEZ を furosemide-glycerol と併用した群では、furosemide-glycerol 群に認められた腎の機能的、形態学的変化以外は認められなかった。

これに対して、CER と furosemide-glycerol の併用群では、furosemide-glycerol 群に比べ、尿中 lysozyme 活

性の上昇、上皮細胞の尿中排泄の増加および粗顆粒円柱の排泄が認められ、さらに近位尿細管曲部に限局性の壊死が観察された。別に実施した実験では、CER 500 mg/kg の単独投与は、他にも報告<sup>6)</sup>されているごとく腎障害を惹起しなかった。

以上の成績から、本実験において CER の腎毒性は、LAWSON の報告のごとく、furosemide-glycerol により増強されることが確認された。一方、同一条件下で検討した MK-0787, MK-0791, MK-0787/MK-0791 と対照として用いた CEZ では、利尿剤による腎毒性の増強効果は認められなかった。

(実験期間：昭和 58 年 6 月 1 日～同年 10 月 26 日)

## 文 献

- 1) KROPP, H.; J. G. SUNDELOE, D. L. BOHN & F. M. KAHAN: Improved urinary tract bioavailability of MK 0787 when coadministered with inhibitor of renal dehydropeptidase I. Abstract 270. 20th ICAAC. New Orleans, Louisiana 1980.
- 2) MACDONALD, J. S.; D. L. BOKELMAN & R. S. ROSENTHAL: Imipenem: cilastatin sodium (MK-0787/MK-0791) marketing authorization application (MAA) general toxicity. January, 1984 (unpublished)
- 3) 上田 泰, 斎藤 篤, 内浦玉堂: 抗生剤の腎障害性について。月刊薬事, 17: 1867~1871, 1975
- 4) LAWSON, D. H.; R. F. MACADAM, H. SINGH, H. GAVRAS, S. HARTZ, D. TURNBULL & A. L. LINTON: Effect of furosemide on antibiotic-induced renal damage in rats. J. Infect. Dis. 126: 593~600, 1972
- 5) LINTON, A. L.; R. R. BAILEY & D. T. TURNBULL: Relative nephrotoxicity of cephalosporin antibiotics in an animal model. Can. Med. Assoc. J. 107: 414~416, 1972
- 6) 田村 稔, 佐藤憲雄, 小田早苗, 宮本晴美, 戸門洋志, 松本道男, 白井俊一: Ceftazidime の安全性に関する研究 (X) 腎障害性の他剤との比較並びに furosemide および glycerol 併用による増強効果。Chemotherapy 31: 997~1015, 1983
- 7) LOCKWOOD, T. D. & H. B. BOSMANN: The use of urinary N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase in human renal toxicology I. partial biochemical characterization and excretion in humans and release from the isolated perfused rat kidney. Toxicol. Appl. Pharmacol. 49: 323~336, 1979
- 8) LITWACK, G.: Photometric determination of lysozyme activity. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 89: 401~403, 1955
- 9) NGAHA, E. O. & D. T. PLUMMER: Toxic renal damage: changes in enzyme levels. Biochem. Med. 18: 71~79, 1977
- 10) ATKINSON, R. M.; J. P. CURRIE, B. DAVIS, D.

- A. H. PRATT, H. M. SHARPE & E. G. TOMICH : Acute toxicity of cephaloridine, an antibiotic derived from cephalosporin C. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 8 : 398~406, 1966
- 11) PIPERNO, E.: Detection of drug induced nephrotoxicity with urinalysis and enzymuria assessment. *Toxicology of the kidney*, edited by Jerry B. Hook, Raven Press, New York, 1981
- 12) PILLION, D. J.; A. H. JESKE & F. H. LEIBACH :  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase in the urine from an isolated rabbit kidney perfused with and without DMSO. *Biochem. Pharmacol.* 25 : 913~922, 1976
- 13) PRESCOTT, L. F. & S. ANSARI : The effects of repeated administration of mercuric chloride on exfoliation of renal tubular cells and urinary glutamic-oxaloacetic transaminase activity in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 14 : 97~107, 1969
- 14) SCOTT, J. T.; A. M. DENMANN & J. DORLING : Renal irritation caused by salicylates. *Lancet*, 1 : 344~348, 1963
- 15) HOUGHTON, D. C.; M. HARTNETT, M. C. BOSWELL, G. PORTEE & W. BENNET : A light and electron microscopic analysis of gentamycin nephrotoxicity in rats. *Am. J. Pathol.* 82 : 589~612, 1976
- 16) LAWSON, D. H.; R. F. MACADAM, H. SINGH, H. CARAS & A. L. LINTON: The nephrotoxicity of Cephaloridine. *Postgrad. Med. J.* 46 : 36~38, 1970

## TOXICOLOGICAL STUDIES OF IMPENEM/CILASTATIN SODIUM (IV)

### COMPARISON IN THE RAT OF NEPHROTOXICITY WITH THOSE OF CEFAZOLIN AND CEPHALORIDINE AND EFFECT ON NEPHROTOXICITY OF COADMINISTRATION WITH FUROSEMIDE AND GLYCEROL

TOSHIMI USUI, HIROSHI KUNO, HAYAO KOBAYASHI, KYOKO MATSUI  
and MASAYUKI KEMI

Research Laboratories, Nippon Merck-Banyu Co., Ltd.

These studies were undertaken to evaluate the nephrotoxicity of imipenem (MK-0787), MK-0787 and cilastatin sodium (MK-0791) at a combination ratio of 1 : 1, cephaloridine and cefazolin in rats as well as the nephrotoxicity of these antibiotics when coadministered with furosemide and glycerol.

1. Nephrotoxicity was not observed in rats treated intravenously with MK-0787 or MK-0787/MK-0791 at the maximum administrable dose (600, 600/600 mg/kg/day) for 21 days. The sequence of proximal tubular damage and repair observed during the course of cephaloridine administration was well correlated with the changes in urinalysis, urinary enzyme activity and serum biochemistry, while cefazolin as another reference antibiotic did not induce nephrotoxicity. No similar changes were seen with MK-0787 or MK-0787/MK-0791.

2. MK-0787, MK-0791, MK-0787/MK-0791, or cefazolin at dose levels of 600, 600, 600/600 or 600 mg/kg did not potentiate the nephrotoxicity caused by injection of furosemide and glycerol. Enhanced nephrotoxicity of cephaloridine at dose level of 500 mg/kg was observed when it was coadministered with furosemide and glycerol.